

Infecções Respiratórias por *Influenza*: Reflexões para a ausência de um diagnóstico

Rita Machado¹, Maria João Brito¹, Virginia Loureiro², Gonçalo Cordeiro Ferreira¹

RESUMO

Introdução: O vírus influenza afecta anualmente 10 a 40% das crianças e destas 0,5 a 1% vão necessitar de internamento. Ao averiguar a prevalência desta infecção no internamento do Hospital Dona Estefânia, entre Janeiro de 2004 e Junho de 2006, constatámos a existência de apenas nove casos diagnosticados.

Objectivos: Determinar as causas da escassez do número de diagnósticos de infecções pelo vírus influenza.

Materiais e Métodos: Para alcançar o objectivo deste estudo foram consideradas as seguintes hipóteses: 1) baixa incidência de gripe sazonal no período considerado 2) insuficiência do número de pedidos para pesquisa do vírus pelo corpo clínico 3) baixa identificação por procedimentos técnicos incorrectos. Foram analisados os pedidos de pesquisa de vírus respiratórios e realizado um inquérito ao corpo clínico e enfermagem sobre os procedimentos técnicos de diagnóstico. Os dados foram completados através de consulta de processos clínicos. O diagnóstico laboratorial foi realizado por técnica de imunofluorescência indirecta (Kit VRK®, Bartels).

Resultados: Após exclusão de várias hipóteses identificámos procedimentos técnicos incorrectos na metodologia do diagnóstico utilizada, condicionando uma baixa taxa de identificação vírus respiratórios - 23% (276 resultados positivos em 1231 amostras).

Comentários: O diagnóstico da gripe contribui para o controle da morbilidade e mortalidade desta infecção.

Para que este processo seja efectivo é essencial que os profissionais de saúde sigam rigorosamente os procedimentos que conduzem a um correcto diagnóstico da doença. O insuficiente número de casos detectados no nosso estudo proporcionou-nos uma reflexão sobre a metodologia empregue para que, futuramente, se possa maximizar o número de diagnósticos de infecções respiratórias pelo vírus influenza.

Palavras-chave: vírus influenza, diagnóstico, criança

Nascer e Crescer 2008; 17(2): 65-69

INTRODUÇÃO

As infecções respiratórias são uma importante causa de morbilidade na criança e constituem a principal causa de internamento na maioria das unidades de saúde⁽¹⁻⁵⁾. Embora possam estar implicados uma variedade de microorganismos, a etiologia viral é de longe - em cerca de 90% dos casos - a mais frequente^(2,6). O vírus sincicial respiratório (VRS), adenovírus, vírus parainfluenza 1, 2 e 3 e vírus influenza A e B, bem conhecidos como causa de doença respiratória são identificados em 61 - 88% dos casos, em lactentes e crianças⁽¹⁾.

O diagnóstico etiológico destas infecções, nomeadamente nas crianças hospitalizadas é de primordial importância. Obvia a instituição de antibioticoterapia desnecessária, permite definir melhor o curso natural da doença e o prognóstico⁽⁷⁻⁹⁾. A estas vantagens adiciona-se a possibilidade de identificar potenciais ameaças endémicas e limitar a ocorrência de infecções nosocomiais⁽⁵⁾, quando tomadas medidas adequadas para o efeito.

As infecções pelo vírus influenza são frequentes na criança e responsáveis por surtos comunitários^(9,10). O vírus afecta anualmente 10 a 40% das crianças e destas 0,5 a 1% vão necessitar de hospitalização^(4,5,9). Crianças com factores de risco (doença pulmonar crónica, cardiopatia, doença renal crónica, hemoglobinopatias, imunodepressão) e com idade inferior a cinco anos, particularmente as com menos de dois anos de idade, têm maior probabilidade de internamento e complicações pela infecção por vírus influenza⁽⁹⁻¹²⁾.

Ao averiguar a prevalência e estudar as características das infecções por influenza em crianças internadas no Hospital Dona Estefânia, entre Janeiro de 2004 e Junho de 2006, constatámos a existência de apenas nove casos. Por isso, este estudo teve como objectivo determinar causas que expliquem a escassez dos diagnósticos de infecções por influenza no período citado.

MÉTODOS

De acordo com a classificação ICD-9 (códigos 460-466; 480-487), aplicada a crianças internadas por infecções respiratórias, e com dados fornecidos pelo laboratório de Imunologia, identificaram-se nove casos de gripe, entre Janeiro de 2004 e Junho de 2006, cujos processos foram analisados. Estes casos identificados corresponderam a crianças com idades compreendidas entre os 28 dias e os 2 anos e 10 meses, sendo 66,7% (n=6) do sexo masculino. Bronquiolite (n=4), pneumonia intersticial (n=2), broncopneumonia (n=1), pneumonia bacteriana secundária (n=2), foram as patologias identificadas. Duas crianças necessitaram de ventilação invasiva, uma das quais, com um síndrome polimalformativo, acabou por falecer.

¹ Serviço 1 de Pediatria do Hospital de D. Estefânia

² Serviço de Patologia Clínica do Hospital de D. Estefânia

Para explicar o baixo número de diagnósticos encontrados foram consideradas as possíveis hipóteses:

- 1) baixa incidência de gripe sazonal no período considerado;
- 2) insuficiência do número de pedidos para pesquisa do vírus pelo corpo clínico;
- 3) baixa identificação por procedimentos técnicos incorrectos (métodos de colheita, acondicionamento e transporte da amostra, técnica laboratorial).

Foram analisados dados referentes ao pedido de pesquisa de vírus respiratórios em crianças internadas por infecção respiratória (n=1295) durante o período contemplado neste estudo e resultados respectivos. Tal informação foi obtida no laboratório de Imunologia do HDE.

Foi, também, realizado um inquérito ao corpo de enfermagem dos diferentes serviços do HDE onde se questionava a forma de realizar a colheita, nomeadamente a técnica realizada, hora, acondicionamento antes e durante o transporte para o laboratório e tempo até ao início do processamento. Os dados foram completados por consulta de processos clínicos (50, seleccionados de modo aleatório), nomeadamente os referentes ao dia de doença em que era realizada a colheita da amostra.

O diagnóstico laboratorial foi realizado por técnica de imunofluorescência indirecta (*Kit VRK®, Bartels*) que possibilita a identificação de sete vírus: vírus sincicial respiratório, parainfluenza 1, 2 e 3, influenza A e B, e adenovírus nas secreções nasofaríngeas.

RESULTADOS

Considerando a primeira hipótese – uma eventual baixa incidência de gripe sazonal, entre Janeiro 2004 e Junho de 2006 - de acordo com os dados da DGS, embora na época de 2005-2006 a actividade gripal tenha sido fraca, em 2003-2004 e 2004-2005 a gripe registou uma elevada intensidade⁽¹³⁻¹⁵⁾.

No que respeita à segunda hipótese – insuficiência do número de pedidos para pesquisa do vírus pelo corpo clínico – verificámos que de um total de 1295 internamentos por infecções respiratórias,

a pesquisa de vírus respiratórios foi requisitada em 1231 (95%) crianças.

Relativamente à terceira hipótese - realização de procedimentos técnicos incorrectos - constatamos que das 1231 amostras de secreções nasofaríngeas processadas se registou identificação de pelo menos um vírus respiratório em 276 (23%) casos: VSR (229), influenza A (2), influenza B (7), parainfluenza 1 (5), parainfluenza 3 (12) e adenovírus (21). A média e a mediana da data da colheita era o sexto dia de doença. A colheita das secreções nasofaríngeas era, na maioria das vezes, realizada quando as crianças chegavam à enfermaria, muitas vezes à noite, sem apoio da cinesioterapia e utilizando frequentemente soro fisiológico. As amostras revelavam frequentemente a presença de saliva ou células epiteliais em excesso.

Durante a averiguação relativa ao transporte e acondicionamento constatou-se que o tempo de espera da amostra em ar ambiente, antes e após o transporte da enfermaria para o laboratório, era superior a 10 minutos. Uma das justificações apontadas para tal, é o facto da equipa auxiliar médica esperar angariar outros produtos da enfermaria, até levar a amostra para o laboratório.

DISCUSSÃO

O verdadeiro objectivo deste estudo foi averiguar a etiologia do baixo número de infecções pelo vírus influenza, corroborando ou refutando as diversas hipóteses colocadas.

Perante os dados relativos à vigilância de gripe em Portugal durante o período deste estudo, fornecidos pela DGS, afastámos a hipótese de que uma baixa actividade gripal justificaria a raridade de casos de gripe encontrada. De facto, apesar de ter ocorrido uma baixa incidência de gripe sazonal na época de 2005-2006, em 2003-2004 e 2004-2005 a gripe registou uma elevada intensidade.

A outra causa possível, uma insuficiência de pedidos para pesquisa do vírus influenza por parte do corpo clínico, foi também refutada quando se constatou que em 95% das 1295 crianças internadas por infecção respiratória tinha sido efectuada essa investigação.

Resta-nos então os erros técnicos nos procedimentos de diagnóstico. Tradicionalmente o diagnóstico das infecções respiratórias virais é feito pela detecção do agente no período de doença (isolamento em cultura celular, imunofluorescência directa e indirecta, pesquisa por PCR e hibridação de ácidos nucleicos) ou por serologia, com a determinação de um aumento do título de anticorpos durante a convalescença⁽¹⁶⁾. A técnica de imunofluorescência indirecta utilizada no nosso hospital permite, em poucas horas, a identificação de sete dos agentes virais mais prevalentes nas infecções respiratórias nas secreções nasofaríngeas. Mediante condições apropriadas^(16,17) este método tem elevada especificidade (97-100%), sensibilidade de 52% para o vírus parainfluenza 1, 77% para o vírus Influenza B e 85-86% para os restantes⁽¹⁷⁾. No nosso estudo, houve uma baixa taxa de identificação vírus respiratórios - 23% (276 resultados positivos em 1231 amostras). Este resultado fica, assim, muito aquém das taxas referidas habitualmente na literatura. De facto, a nível nacional, já em 1999, Susana Ramos et al obtiveram uma taxa de identificação de vírus respiratórios, com a técnica de imunofluorescência indirecta, na ordem dos 50%⁽¹⁸⁾. Em crianças hospitalizadas com bronquiolite aguda, em 2000-2001, Simone Sudbrack obteve uma positividade de 67,7% na identificação de vírus respiratórios com a técnica de imunofluorescência indirecta⁽¹⁹⁾. Entre 2000 e 2004, em crianças hospitalizadas ou em ambulatório com idade inferior a cinco anos com sintomatologia respiratória ou febre, Grijalva, C et constatou uma sensibilidade de 63% e especificidade de 97% dos testes de imunofluorescência indirecta empregues na detecção do vírus influenza⁽²⁰⁾. Então, perante a baixa taxa de positividade de identificação de vírus respiratórios verificada neste estudo, importou-nos identificar as potenciais causas deste achado.

As secreções nasofaríngeas constituem a amostra de eleição, uma vez que permitem a obtenção de células infectadas pelos vírus em número suficiente⁽¹⁵⁾. Neste sentido, uma das causas que pode justificar a baixa taxa de

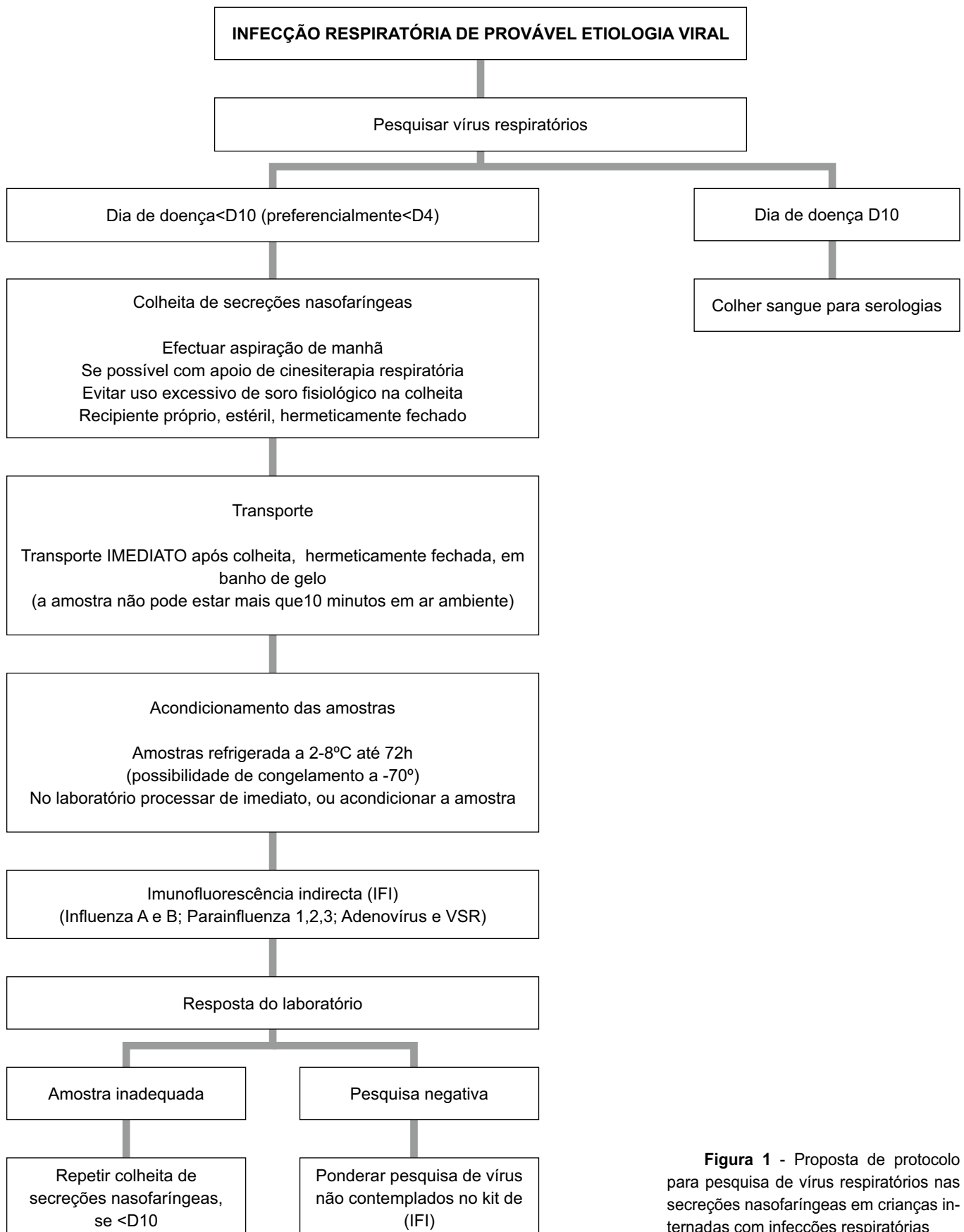


Figura 1 - Proposta de protocolo para pesquisa de vírus respiratórios nas secreções nasofaríngeas em crianças internadas com infecções respiratórias

identificação dos agentes etiológicos encontrada neste estudo relaciona-se, precisamente, com colheita de amostras inadequadas. De modo correcto, as secreções devem ser aspiradas, introduzindo uma sonda estéril nas fossas nasais da criança, para recipiente próprio, que será hermeticamente fechado^(17,18). Adicionalmente o laboratório deve referir ao clínico se a amostra é insuficiente, tem excesso de células epiteliais ou é inadequada (saliva). Nestes casos a colheita deve ser repetida.

Outro factor que provavelmente afectou a baixa rentabilidade da identificação foi a hora incorrecta da colheita. As amostras devem ser recolhidas de manhã, quando a criança acorda, pela possibilidade de se ter maior quantidade de células infectadas no aspirado nasofaríngeo. Pela mesma razão, a colheita poderá ser efectuada com o auxílio da cinesiterapia respiratória, não se devendo instilar soro fisiológico em excesso.

Relativamente à data da colheita recomenda-se que seja realizada nos primeiros cinco a sete dias de doença, idealmente entre o segundo e terceiro^(17,18). Posteriormente a partir do décimo dia de doença, o diagnóstico deverá ser realizado por serologia, já que a especificidade e sensibilidade da técnica diminui bastante. O facto da maioria das crianças do nosso estudo realizar a colheita muito tardiamente foi outro facto a considerar nos maus resultados obtidos.

As amostras devem ser acondicionadas em recipiente próprio, estéril e hermeticamente fechado e serem processadas de imediato ou, se tal não for possível devidamente acondicionadas. O transporte para o laboratório deve ser efectuado imediatamente após a colheita, em banho de gelo, evitando tempo de espera em ar ambiente superior a 10 minutos. No laboratório as amostras podem ser guardadas durante 72 horas se refrigeradas a 2-8°C. Existe ainda a possibilidade de congelamento a -70°C, embora a detecção de agente etiológico diminua^(17,18). No nosso caso também detectamos incorrecções no acondicionamento e transporte das amostras, particularmente no que concerne ao tempo de espera da amostra em ar ambiente.

Este estudo permitiu, pois, detectar erros técnicos relativos à colheita (técnica, hora e dia de doença), acondicionamento e transporte das amostras para pesquisa de vírus respiratórios que poderão ser responsáveis por falsos-negativos, e deverão ser obviados futuramente. Desta forma os autores propõem um protocolo de actuação para a pesquisa de vírus respiratórios nas secreções nasofaríngeas (fig.1).

Se, com uma correcta execução dos diferentes procedimentos, o resultado for negativo, poder-se-á averiguar existência de outro agente viral não contemplado no kit disponível, ou, se ultrapassado tempo de evolução de doença superior a 10 dias, deverá ser efectuado diagnóstico serológico.

COMENTÁRIOS

O diagnóstico etiológico das infecções respiratórias víricas motivadoras de internamento é de extrema relevância. Além de evitar a prescrição desnecessária de antibioticoterapia, permite definir melhor o curso natural da doença e o seu prognóstico. Particularizando, o diagnóstico da gripe contribui para a avaliação e controle da morbidade e mortalidade desta infecção, e suas complicações. Para que este processo seja efectivo é essencial motivar e mobilizar os profissionais de saúde para que sigam rigorosamente os procedimentos que conduzam ao correcto diagnóstico da doença. O insuficiente número de casos detectados proporcionou-nos uma reflexão sobre a metodologia empregue de forma a que, futuramente, se possa maximizar o número de diagnósticos de infecções respiratórias pelo vírus influenza.

INFLUENZA RESPIRATORY TRACT INFECTIONS: COMMENTS ABOUT THE LACK OF DIAGNOSIS

ABSTRACT

Background: Influenza virus yearly affects 10-40% of children and 0,5-1% of them will need hospital admission. While studying the prevalence of influenza virus infections in children admitted in Hospital de Dona Estefânia (Lisbon)

during January 2004 and June 2006, the authors found only nine diagnosed cases of influenza.

Aims: To identify the possible causes of the detected lack of influenza diagnosis during that length of time.

Methods: The authors considered the following hypothesis: 1) low incidence of Influenza infections during the period of the study; 2) insufficient clinical requests for investigate Influenza as a possible aetiology of respiratory infections; 3) Low detection caused by errors in technical procedures used in the diagnostic methodology. The requests for laboratorial diagnosis of Influenza were analyzed and an inquiry about technical procedures in Influenza laboratorial diagnosis was made to nurses and clinical staff. The information was completed with consultation of the patient files. The laboratorial diagnosis was made using indirect immunofluorescence assay (Kit VRK®, Bartels).

Results: We found that the most important cause of the lack of diagnosis was the existence of errors in technical procedures used in the diagnostic methodology, leading to a low rate of respiratory virus identification – 23%.

Comments: The exact influenza diagnosis helps in the surveillance of its morbidity and mortality. In order to do it correctly, all health care professionals need to rigorously carry on the accurate procedures that lead to the proper diagnosis of this disease. In our case, the insufficient number of diagnosis gave us the opportunity to reflect about the applied methodology so that, in the future, we can maximize the number of diagnosis of influenza respiratory tract infections.

Key-words: Influenza, diagnosis, children

Nascer e Crescer 2008; 17(2): 65-69

BIBLIOGRAFIA

1. Human bocavirus found in children with lower respiratory tract infection. Euro Surveill. 2005 ;10(8): 050825
2. Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. Frequent detection of human rhinoviruses,

- paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *J Med Virol*. 2006;78(9):1232-40.
3. Byington CL, Castillo H, Gerber K, Daly JA, Brimley LA, Adams S, et al. The Effect of Rapid Respiratory Viral Diagnostic Testing on Antibiotic Use in a Children's Hospital. *Ach Pediatr Adolesc Med*. 2002;156:1230-1234.
 4. Bourgeois FT, Valim C, Wei JC, McAdam AJ, Mandl KD. Influenza and Other respiratory virus-related Emergency Department Visits Among Young Children. *Pediatrics* 2006; 118:e1-e8
 5. Poehling KA, Griffin MR, Dittus RS, Tang YW, Holland K, Li H, Edwards KM. Bedside Diagnosis of Influenza-virus Infections in Hospitalized Children. *Pediatrics*. 2002;110 (1Pt1):83-8.
 6. Woo PC, Chiu SS, Seto WH, Peiris M. Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients. *J Clin Microbiol* 1997, 35 (6):1579-1581.
 7. Adcock PM, Stout GG, Hauck MA, Marshall GS. Effect of rapid viral diagnosis on the management of children hospitalized with lower respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16(9):842-6.
 8. Bonner AB, Monroe KW, Talley LI, Klasner AE, Kimberlin DW. Impact of the Rapid Diagnosis of Influenza on Physician Decision-Making and Patient Management in the Pediatric Emergency Department: Results of a Randomized, Prospective, Controlled Trial. *Pediatrics* 2003; 112: 363-367.
 9. Richard EB, Hal BJ, Robert MK. Nelson Textbook of Pediatrics, 16ª Edição, 2004: 1072-1075
 10. William WH, Myron JL, Judith MS, Robin RD. Current Diagnosis & Treatment in Pediatrics, 18ª ed, 2006: 1104-1106
 11. Cox NJ, Subbarao K. Influenza *Lancet* 1999 9;354(9186):1277-82
 12. Maricich SM, Neul JL, Lotze TE, Cazacu AC, Uyeki TM, Demmler GJ, Clark GD. Neurologic complications associated with influenza A in children during the 2003-2004 influenza season in Houston, Texas. *Pediatrics* 2004;114(5):e626-33
 13. Rebelo de Andrade H, et al. Relatório Anual do Sistema Nacional de Vigilância daGripe. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge; 2004.
 14. Rebelo de Andrade H, et al. Relatório Anual do Sistema Nacional de Vigilância daGripe. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge; 2005.
 15. Teles de Araújo A, et al. Relatório do Observatório Nacional de Doenças Respiratórias 2006
 16. Weissenbacher, MMÁ. Os Vírus como Causa de IRA Alta e Baixa em Crianças: Características Gerais e Diagnóstico. In: Y. Benguigui, F.J. López Antuñano, G. Schmunis e J. Yunes, Infecções Respiratórias em Crianças, Organização Pan-Americana de Saúde, OMS; 1998: 91-108
 17. USA Enquiries, A Trinity Biotech Company: VRK- Bartels Viral screening and identification Kit, Manual de Utilização
 18. Ramos S, Gama de Sousa S, Guedes M, Castro AP, Amorim JMC. Vírus respiratórios: resultados de um ano de pesquisas. *Acta-pediatr-port* 1999; 30(6):481-484.
 19. Sudbrack S, Ponzi D, Massuco L, Coral C, Stein RT, Pitrez PMC. Prevalence of respiratory virus in infants with acute bronchiolitis and recurrent wheezing in an emergency room in south Brazil *Scientia Medica, Porto Alegre* 200717 (3): 124-129
 20. Grijalva CG, Poehling KA, Edwards KM, Weinberg GA, Staat MA, Iwane MK, Schaffner W, Griffin MR. Accuracy and Interpretation of Rapid Influenza Tests in Children. *Pediatrics* 2007, 119: e6-e11

CORRESPONDÊNCIA

Rita Bellegarde Machado
Hospital de Dona Estefânia
Rua Jacinta Marto
1169-045 Lisboa
ritinhamachado@hotmail.com